

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Caracterización de la microestructura del corión del huevo de *Symmetrischema tangolias* y *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae): Propuesta de un modelo estocástico para la identificación entre las dos especies.

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias
Biológicas

CAROLINA ALEXANDRA MARTÍNEZ GRIJALVA

Martínez et al.: Estructura coriónica de *T. solanivora*
& *S. tangolias*

C. Martínez

PUCE

Lab. de Bioquímica

Av.12 de Octubre 1076 y Roca

Anal. of the Entomological Society of America

Quito

Telf: 0995805722

Email: caro.amg89@gmail.com

Caracterización de la microestructura del corión del huevo de *Symmetrischema tangolias* y *Tecia solanivora* (Lepidóptera: Gelechiidae): Propuesta de un modelo estocástico para la identificación entre las dos especies.

C. Martínez G¹, C A Soria², R. León V³.

^{1,2}Laboratorio de Bioquímica, Escuela de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Av. 12 de Octubre 1076 y Roca. Quito-Ecuador.

³Grupo WICOM. Universidad de las Fuerzas Armadas. ESPE. Sangolquí. Av. Gral. Rumiñahui s/n. Sangolquí-Ecuador.

Resumen

Por microscopía electrónica de barrido se estudió la estructura coriónica de los huevos de la polilla de la papa, *Symmetrischema tangolias* y *Tecia solanivora* (Lepidóptera: Gelechiidae), describiendo las reticulaciones existentes en ambas especies y determinando la presencia de aerópilos y micrópilos. Se caracterizó la estructura del corión de las dos especies y se observó que presentan diferencias marcadas en la reticulación de sus respectivos coriones. Se describió también las características de los micrópilos de ambas especies, las cuales son propias de cada una. Con microscopia confocal se determinó el tamaño de los ejes mayor y menor de los huevos lo que permitió calcular su superficie y volumen, adicionalmente el estudio de los ejes permitió proponer un modelo estocástico que sirve para clasificar las dos especies. Los huevos de *Tecia solanivora* resultaron ser estadísticamente más grandes que los de *Symmetrischema tangolias*. La determinación y caracterización del tamaño y número de los aerópilos en las dos especies abre la posibilidad de entender mejor el metabolismo de estos huevos y el control de estas plagas.

Palabras Clave: corión, modelo estocástico, *Symmetrischema tangolias*, *Tecia solanivora*.

Introducción

El cultivo de papa representa uno de los más importantes en la zona andina del Ecuador además de ser un producto básico en la dieta de los ciudadanos. Durante los años 2000 a 2011 este cultivo representó el 4.23% del PIB (Producto Interno Bruto), la superficie total de cosecha fue durante este mismo período de 49.038 hectáreas anuales con un rendimiento promedio de 6,64 T/ha (Flores et al. 2012). Del total cultivado el 88% corresponde al trabajo de pequeños productores y el 12% restante a los grandes productores (Andrade y Bonilla s/a). Este como otros cultivos se encuentran amenazados por una serie de enfermedades y plagas, siendo una de las más importantes el complejo de la polilla de la papa, el cual está formado por tres especies de la familia Gelechiidae del orden Lepidóptera, *Phthorimea operculella*, *Symmetrsichema tangolias* y *Tecia solanivora*.

En algunas especies del orden Lepidóptera se desconoce la estructura y el ciclo de maduración del huevo. La información existente solamente reporta datos sobre larvas, crisálidas y plantas huéspedes (Hernández et al. 2014a, 2014b). Debido a esta falta de información y para contribuir al conocimiento sobre esta importante plaga el presente estudio analizó la morfología del corión de dos especies de la polilla de la papa *S. tangolias* y *T. solanivora*. *Symmetrischema tangolias* es una especie típica del área andina e ingresó al país en el año 2001 (Barragán et al. 2002). *Tecia solanivora* es una especie proveniente de Centroamérica y llegó al Ecuador en el año 1996 (Echeverría y Enríquez 2006). Las dos polillas afectan tanto al cultivo como al almacenamiento de la papa causando daños importantes.

Los huevos de insectos protegen al oocito y al embrión en desarrollo, garantizando al mismo tiempo el intercambio gaseoso, el acceso del espermatozoide y la

eclosión (Gaino et al. 2008, Skudlik et al. 2005, Propawa y Rost 2004, Simiczjew 1999, Rosciszewska 1996a, 1996b). Su cascarón está formado, ya sea en su mayoría o completamente, por las células foliculares. Esta capa externa se la conoce como corión y consta de dos partes: el endocorión y el exocorión los cuales están formados por una serie de secreciones. Primero se forma el endocorión sobre la membrana vitelina y una vez que está completo, se añaden las secreciones para la formación del exocorión (Chapman 1982). En muchos huevos el exterior del corión está marcado por una serie de hexágonos, lo que es una impresión de la células foliculares que lo producen (Chávez y Añez 2013, Chapman 1982). En el corión hay regiones especializadas como el micrópilo que permite la entrada del espermatozoide, el hidrópilo para la captación del agua, el aerópilo para la respiración y en algunas especies se desarrollan diferentes tipos de superficies de fijación (ganchos, denticulos, etc.) (Gaino et al. 2008, Skudlik et al. 2005, Propawa y Rost 2004, Simiczjew 1999, Rosciszewska 1996a, 1996b).

Para obtener imágenes del corión de los huevos de estas dos especies se utilizó la microscopia electrónica de barrido y la microscopía confocal mediante protocolos adaptados a las especies en estudio debido a que los usualmente utilizados destruyeron el detalle geométrico de la superficie externa del huevo. Se propuso caracterizar los huevos con un análisis comparativo utilizando modelos estadísticos para demostrar similitudes y diferencias entre las dos especies. Se reconoce la presencia de micrópilos, aerópilos y otras estructuras características del huevo incluyendo ubicaciones y tamaños (Cruz-Reyez y Camargo-Camargo 2001, Cummings y King 1996, Chapman 1982). El estudio del corión puede ser importante en la determinación de especies, ya que los huevos y sus estructuras asociadas representan caracteres útiles en la reconstrucción filogenética (Freitas y Brown 2004, García-Barros y Martín 1995).

Materiales y Métodos

Colecta de los huevos. Se contó con poblaciones de individuos de las especies *S. tangolias* y *T. solanivora* que crecieron en condiciones controladas de laboratorio. Se realizaron cámaras de cópula con los adultos en tubos de PBC de 30 cm de largo por 10 cm de ancho, en cada cámara se utilizó entre 60 a 100 individuos. Se colocó los adultos en tubos, tapando cada extremo con una malla y se ubicó una cartulina negra en cada apertura en donde las hembras realizaron la ovoposición. La recolección de los huevos fue diaria durante el ciclo de incubación. *Symmetrsichema tangolias* presentó un ciclo de incubación que duró nueve días mientras que el de *Tecia solanivora* fue de once días.

Microscopio electrónico de barrido. Se utilizó el microscopio electrónico de barrido (modelo SEM JEOL – JSM5310) del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública, INSPI, en Guayaquil, Ecuador. Inicialmente se usaron huevos fijados en gluterdialdehído al 3 % o en formalina al 80 % pero estos tratamientos destruyeron el detalle geométrico de las células del corión. Por lo cual se utilizó 10 huevos frescos de cada especie, que pasaron por el recubrimiento de oro (Fine Coaster JEOL), para darles contraste pudiendo observarlos, estudiarlos y luego fotografiarlos. Una vez obtenidas las fotografías se midió los aerópilos y micrópilos de cinco huevos de cada especie con la escala determinada en dichas fotos.

Microscopio confocal. Se utilizó el microscopio confocal (Olympus FV100) del Laboratorio de Fitopatología de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de Calidad del Agro, Agrocalidad Tumbaco, Ecuador. En su inicio se utilizó paraformaldehído como fijador de los huevos, pero este tratamiento ocasionaba la pérdida del detalle geométrico y reducía el tamaño de los mismos. Por lo tanto, se procedió a utilizar huevos frescos, tiñéndolos por cinco minutos con el cromatóforo RH414 (Invitrogen) y buffer fosfato pH 7

en una relación de 1:50 μ l; una vez teñida la muestra se lavó tres veces con buffer carbonato pH 10 dejando un minuto entre cada lavada. En el portaobjetos se colocaron tres gotas contiguas de glicerina, sobre cada una de estas se colocaron huevos y se procedió a la observación de aquellos que mantenían su estructura. Con el Software FV10-ASW 3.0 del microscopio confocal Olympus se tomaron las medidas del eje mayor y el eje menor, con los cuales se calculó el volumen y la superficie usando las fórmulas correspondientes de una elipsoide. Se observaron 225 huevos de *S. tangolias*, 25 huevos por día a partir del día 1 de la ovoposición hasta el día 9, antes de la eclosión. La misma metodología se utilizó para *T. solanivora* desde el día 1 hasta el día 11, antes de la eclosión, un total de 275 huevos de esta especie.

Análisis Estadístico: Se trabajó con el Software SPSS versión 18.0, con el cual se obtuvo los estadísticos descriptivos correspondientes a los ejes mayor y menor que fueron fundamentales para la realización del modelo matemático, el volumen del corión del huevo de la polilla de la papa *S. tangolias* y *T. solanivora* y la superficie con la cual comparamos las dos especies para determinar sus diferencias. Para comprobar la normalidad de los datos tanto del eje mayor como del eje menor, dentro de cada día de incubación, se realizó las pruebas de Kolmogorov-Smirnov (Sánchez 2015). También se llevó a cabo el análisis de varianza (ANOVA) a fin de establecer diferencias significativas entre los días de incubación respecto de los ejes mayor y menor del huevo. Complementariamente se determinó los componentes añadidos de varianza y se observó la magnitud de la variación atribuible a los diferentes componentes del modelo utilizado (Diseño Completamente Aleatorio). Con la prueba de Student's t se estableció las diferencias entre el tamaño de los huevos de las dos especies sobre la variable superficie, y la homogeneidad de las varianzas de los ejes a través del test de Levene (Sánchez 2015).

Para determinar si existían diferencias significativas en el número de aerópilos entre las especies y debido a la muestra (cinco huevos por especie), se realizó una prueba de Mann Whitney, además de que se obtuvieron los estadísticos descriptivos correspondientes a esta variable.

Resultados

El análisis de los huevos de *Symmetrischema tangolias* y *Tecia solanivora* permiten observar que la forma característica se aproxima a una elipsoide, esta figura presenta tres ejes, pero en el caso de este estudio los ejes ancho y alto tienen el mismo valor; por eso se habla de dos ejes: mayor o largo y menor o ancho.

Morfología General. Los huevos de *S. tangolias* ([Fig. 1 y 2](#)) son desovados de manera individual, presentan un eje mayor medio de 0.47 ± 0.04 mm, un eje menor con una media de 0.35 ± 0.03 mm. La superficie externa tiene una media de 0.49 ± 0.07 mm². El volumen de los huevos tiene un valor medio de 0.03 ± 0.007 mm³, presentan una relación largo: ancho de 1.34 por lo que presentan una apariencia más redondeada ([Tabla 1](#)).

El corión presenta un área bastante irregular muy pronunciada y uniforme ([Fig. 1A y 2](#)), en la que se puede observar una serie de polígonos distribuidos en toda la superficie. Cada huevo tiene un solo micrópilo, con un diámetro de 3.8 µm, en el polo anterior con una roseta principal de cinco a siete pétalos y una roseta secundaria que no se puede diferenciar fácilmente ([Fig. 1B](#)). Los aerópilos están presentes en las zonas en las que los vértices de los polígonos convergen ([Fig. 1C-D](#)), tienen un diámetro aproximado de 1 µm y están rodeados por una especie de anillo.

Los huevos de *T. solanivora* ([Fig. 3 y 4](#)) son desovados de manera individual o en racimos, tienen un eje mayor medio de 0.53 ± 0.05 mm, un eje menor medio de 0.41 ± 0.04 mm. La superficie externa tiene una media de $0.63 \pm .0.09$ mm². El volumen de los huevos tiene un valor de 0.046 ± 0.05 mm³ y presentan una relación largo: ancho de 1.29 ([Tabla 2](#)).

Se observó un solo micrópilo, con un diámetro de 4,6 µm, en el polo anterior, el mismo que presenta una forma de roseta con siete pétalos en la roseta principal y 14 o 15 pétalos en la roseta secundaria ([Figs. 2A-B y 4A](#)). La superficie del corión presenta una serie de polígonos irregulares unidos unos con otros; estas reticulaciones es mucho más marcada en el polo anterior ([Figs. 2A-D](#)). Los aerópilos se encuentran ubicados en la parte central y posterior de los huevos y tienen un diámetro aproximado de 1.20 µm, se encuentran rodeados de un tejido anillado y están ubicados en zonas en las que los vértices de los polígonos convergen ([Fig. 2C](#)). Además de la presencia de estos aerópilos, se observa una gran cantidad de lagunas u orificios en toda la superficie del exocorión del huevo de *T. solanivora* ([Fig. 2E](#)) los cuales no se presenta en *S. tangolias*.

La reticulación externa del corión de las dos especies parece ser única en cada una de ellas, lo que permitiría diferenciarlas fácilmente. El exocorión de *S. tangolias* es mucho más rugoso que el de *T. solanivora* que tiene una superficie más homogénea y delicada ([Figs. 1 y 3](#)).

Análisis Estadístico. Las variables eje mayor y menor tienen una distribución similar a la de una normal ($p > 0.05$) ([Fig. 6](#)). Hay una variación en la medida de los huevos mientras avanza el período de incubación ([Fig. 5](#)) (*T. solanivora*: Eje mayor $F=2.055$, $gl=274$, $p=0.028$, Eje menor $F=1.605$, $gl=274$, $p=0.105$; *S. tangolias*: Eje Mayor: $F=4.984$, $gl=224$, $p<0.001$, Eje Menor $F=3.091$, $gl=224$, $p=0.003$). Sin embargo, esta variación no

demuestra un patrón de crecimiento consistente durante los días, sino que es una variación irregular durante el periodo de incubación (Fig. 6), lo cual es aplicable para ambas especies. Para confirmar lo anterior se analizó los componentes de varianza en *T. solanivora* sobre la variable superficie del corión, dando como resultado que el 4.3% de la variación ocurre entre días y el 95.7% entre los huevos dentro de los días de incubación. En tanto que en el caso de *S. tangolias* se observó que el 9.1% de la variación se dio entre días y el 89.9% entre los huevos dentro de días.

Analizando la variable superficie, se encontró diferencias altamente significativas ($t = -18.88$, $gl=492$, $p=0.001$), siendo *T. solanivora* de mayor tamaño ($\bar{X} = 0.63 + 0.1\text{mm}^2$) que *S. tangolias* ($\bar{X} = 0.49 + 0.07\text{mm}^2$).

En el caso del análisis descriptivo de los aerópilos solamente se tomó en cuenta los estadísticos mediana e IQR (Rango Intercuartil), debido al número de la muestra y a la distribución asimétrica que presentaron, lo que dio como resultado los valores de mediana 10.24 μm e IQR 13.27 μm mm para *S. tangolias* y mediana 25.4 μm e IQR 3.97 μm para *T. solanivora* respectivamente. Además se realizó una prueba de Mann-Whitney U con la que se concluyó que el número de aerópilos presentes *T. solanivora* es diferente al de *S. tangolias* ($p=0.008$). El número de aerópilos por mm^2 de superficie del huevo es mayor en *T. solanivora* (34.92) en comparación con *S. tangolias* (22.45). Además el diámetro de los aerópilos de *T. solanivora* es de 1.2 μm , es decir, son más grandes que los de *S. tangolias* que miden 1 μm ($p=0.003$).

Modelo estocástico. El análisis de los huevos de *S. tangolias* y *T. solanivora* como ya se dijo anteriormente, podría ser aproximado por un elipsoide. La muestra analizada (225 huevos de *S. tangolias* y 275 huevos de *T. solanivora*) va a ser considerada como

variables aleatorias. El eje mayor se denominará variable aleatoria X y el eje menor se denominará variable aleatoria Y.

Al extraer el histograma de los datos de X y Y ([Fig.5](#)) podemos observar que una buena aproximación respecto a la función densidad de probabilidad que caracteriza a las variables aleatorias X y Y es la Gaussiana. La simplicidad del modelo Gaussiano respecto a otros modelos como F-Distribution o Chi-Square, es evidente, porque bastan los dos primeros momentos para que las variables aleatorias X y Y queden completamente caracterizadas.

Desde el punto de vista estocástico los ejes mayor y menor de las dos especies analizadas quedarían caracterizados por las siguientes funciones densidad de probabilidad Gaussianas.

Para *Symmetrischema tangolias*:

$$f_{X1}(x_1) = \frac{1}{\sigma_{x1}\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(X_1 - m_{x1})^2}{2\sigma_{x1}^2}\right] = \frac{1}{0.036\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(X_1 - 0.47)^2}{2(0.001296)}\right] \quad \square$$

Dónde:

X_1 : Longitud del eje mayor de *S. tangolias*.

m_{X1} : Media del eje mayor de *S. tangolias*.

σ_{X1} : Desviación estándar de eje mayor de *S. tangolias*.

$$f_{Y1}(y_1) = \frac{1}{\sigma_{y1}\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(Y_1 - m_{y1})^2}{2\sigma_{y1}^2}\right] = \frac{1}{0.034\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(Y_1 - 0.35)^2}{2(0.001156)}\right]$$

Dónde:

Y_1 : Longitud del eje menor de *S. tangolias*.

m_{Y1} : Media del eje menor de *S. tangolias*.

σ_{Y1} : Desviación estándar de eje menor de *S. tangolias*.

Para *Tecia solanivora*

$$f_{X2}(x_2) = \frac{1}{\sigma_{x2}\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(X_2 - m_{x2})^2}{2\sigma_{x2}^2}\right] = \frac{1}{0.049\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(X_2 - 0.53)^2}{2(0.002401)}\right]$$

Dónde:

X_2 : Longitud del eje mayor de *T. solanivora*.

m_{X2} : Media del eje mayor de *T. solanivora*.

σ_{X2} : Desviación estándar de eje mayor de *T. solanivora*.

$$f_{Y2}(y_2) = \frac{1}{\sigma_{y2}\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(Y_2 - m_{y2})^2}{2\sigma_{y2}^2}\right] = \frac{1}{0.045\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(Y_2 - 0.41)^2}{2(0.002025)}\right]$$

Dónde:

Y_2 : Longitud del eje menor de *T. solanivora*.

m_{Y2} : Media del eje menor de *T. solanivora*.

σ_{Y2} : Desviación estándar de eje menor de *T. solanivora*.

Las expresiones anteriormente obtenidas muestran que las desviaciones estándar de los ejes mayor y menor de cada especie son muy similares (*S. tangolias* $p=0.562$; *T.solanivora* $p=0.977$), las desviaciones del eje mayor y del eje menor de *S. tangolias* fueron 0.036 mm y 0.034 mm respectivamente y de *T. solanivora* 0.049 mm y 0.045mm respectivamente, y por simplicidad matemática y para su uso en el modelo predictivo se obtuvo un valor medio de estas desviaciones. Para el caso de *S.tangolias* 0.035 y para el caso de *T .solanivora* 0.047 ([Tabla 4](#)).

La caracterización anteriormente descrita para los ejes mayor y menor de las dos especies analizadas sirven para, a través del test de hipótesis binario (Procesador de la Razón de Verosimilitud) el cual minimiza el llamado riesgo de Bayes (Van Trees 2013), determinar a qué especie de la polilla de la papa, pertenecería un huevo con dimensiones X y Y. Es posible demostrar que el logaritmo natural de la razón de verosimilitud considerando X y Y variables aleatorias Gaussianas independientes y la hipótesis $H_1 = T.solanivora$ y $H_0 = S.tangolias$, vendría dado por la siguiente expresión:

Razón de Verosimilitud (Van Trees 2013):

$$\Lambda(\underline{r}) = \frac{f_{\underline{R}} /_{H_1} (\underline{r} /_{H_1})}{f_{\underline{R}} /_{H_0} (\underline{r} /_{H_0})} \underset{H_0}{\overset{H_1}{>}} \gamma$$

En el caso H_1 , bajo la consideración de que X y Y son independientes, el numerador de la expresión viene dado por:

$$f_{X_2 Y_2}(x_2, y_2) = f_{X_2}(x_2) f_{Y_2}(y_2)$$

Dónde:

X2: Longitud del eje mayor de *T. solanivora* con $m_{X2}=0.53$ y $\sigma_{X2}=0.047$

Y2: Longitud del eje menor de *T. solanivora* con $m_{Y2}=0.41$ y $\sigma_{Y2}=0.047$

Dando como resultado:

$$f_{X_2 Y_2}(x_2, y_2) = \frac{1}{0.047\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(X_2 - 0.53)^2}{2(0.047)^2}\right] \cdot \frac{1}{0.047\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(Y_2 - 0.41)^2}{2(0.047)^2}\right] \quad \square$$

En el caso H_0 bajo la consideración de que X y Y son independientes, el denominador de la expresión viene dado por:

$$f_{X_1 Y_1}(x_1, y_1) = f_{X_1}(x_1) f_{Y_1}(y_1)$$

Dónde:

X1: Longitud del eje mayor de *S. tangolias* con $m_{X1}=0.47$ y $\sigma_{X1}=0.035$

Y1: Longitud del eje menor de *S. tangolias* con $m_{Y1}=0.35$ y $\sigma_{Y1}=0.035$

Dando como resultado:

$$f_{X_1 Y_1}(x_1, y_1) = \frac{1}{0.035\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(X_1 - 0.47)^2}{2(0.035)^2}\right] \cdot \frac{1}{0.035\sqrt{2\pi}} \exp\left[\frac{-(Y_1 - 0.35)^2}{2(0.035)^2}\right] \quad \square$$

Por tanto el $Ln\left[\bigwedge(r)\right]$ se reduce a:

$$Ln[.] = Ln[f_{X_2}(x_2) f_{Y_2}(y_2)] - Ln[f_{X_1}(x_1) f_{Y_1}(y_1)]$$

Sustituyendo las expresiones $f_{X_1}(x_1)$, $f_{Y_1}(y_1)$, $f_{X_2}(x_2)$, $f_{Y_2}(y_2)$, anteriormente determinadas y reordenando los términos se obtiene la siguiente expresión:

$$\ln\left(\frac{0.035^2}{0.047^2}\right) + \frac{(X - 0.47)^2 + (Y - 0.35)^2}{2(0.035)^2} - \frac{(X - 0.53)^2 + (Y - 0.41)^2}{2(0.047)^2} \begin{matrix} H_1 \\ > \\ < \\ H_0 \end{matrix} \begin{matrix} \\ \\ \square \\ 0 \end{matrix}$$

Dónde:

X: Longitud del eje mayor.

Y: Longitud del eje menor.

Utilizando la fórmula descrita se obtuvo un 86.2% de aciertos en el caso de *S. tangolias* y un 84% de aciertos para *T. solanivora* ([Tabla 5](#)).

Discusión

El presente estudio provee una descripción detallada de la morfología del corión de los huevos de las dos especies observadas en cuanto a forma, reticulación, relación superficie:volumen, número de aerópilos y número de micrópilos.

Huevos de lepidóptera hasta ahora reportados presentan figuras elipsoides, fusiformes, oblongas o alargadas (Hernández et al. 2014a, 2014b). Dentro de la familia Gelechiidae por el momento se ha encontrado huevos de forma fusiforme (Arbogast et al. 1980) y la forma que más se aproxima a los huevos de *T. solanivora* y *S. tangolias* es la elipsoide, su mayor diámetro se encuentra en la mitad del huevo (Llorente y Castro 2007). La misma que igualmente ha sido observada en algunas especies de las familias Pieridae, Saturniidae y Piralidae entre otras (Llorente y Castro 2007, Kawaguchi 2007, Arbogast et al. 1980).

La morfología de los huevos de las dos especies estudiadas muestra diferencias, con respecto a su reticulación, esta divergencia podría explicarse debido a la capa lipoprotéica que es adherida al huevo para la formación del exocorión, esta capa se encuentra

mayoritariamente adherida en los bordes celulares (Chapman 1982). La reticulación de *S. tangolias* es más marcada por lo que se infiere que las secreciones lipoproteicas son más pronunciadas en esta especie. Además de esto es notoria la presencia de células poligonales en la superficie de los huevos de las dos especies, características similares se han reportado en diferentes géneros de Lepidóptera, por ejemplo *Spodoptera sp.*, *Samia sp.* (Kawaguchi 2007), e incluso en diferentes órdenes de insectos observando células desde pentagonales hasta octagonales (Chávez y Añez 2013, Visciarelli et al. 2004, Hernández 1991). Estas formas poligonales del corión son impresas por las células epiteliales de las glándulas ováricas (Galliard 1935).

El patrón de reticulación de los huevos podría ser de suma importancia para la sistemática en la diferenciación de especies desde este temprano estadio, aun cuando se ha encontrado esta característica en diferentes órdenes de insectos. La distribución en el corión de las células poligonales varía en las dos especies, ya que la conformación no presenta las mismas células en una misma ubicación. El presente estudio contribuye al conocimiento sobre la familia Gelechiidae, en la cual algunos géneros representan una amenaza para el área agrícola, esto debido a que los estudios realizados sobre morfología del huevo en Lepidóptera han sido en su mayoría en las familias Pieridae, Nymphalidae, Pyralidae (Llorente y Castro 2007, García y Martín 1995, Arbogast et al. 1980), entre otros.

Los huevos de ciertas especies de insectos están dotados de poros denominados aerópilos que recorren desde el exterior hacía el interior del corión, a través de los cuales se realiza el intercambio gaseoso (Kučerová et al, 2010, Cummings y King 1996, Chapman 1982, King et al. 1956, Tuft 1950). En el caso del orden Lepidóptera los aerópilos no son un carácter que se encuentra siempre presente, y cuando los hay estos pueden variar en su ubicación, tamaño y forma incluso dentro de un mismo huevo: El borde de los aerópilos puede ser o no especializado y puede mostrarse bien desarrollado o pobremente definido

(Arbogast et al. 1980). En las dos especies se observó la presencia de aerópilos pudiendo definir la ubicación de estos en el huevo de *T. solanivora* y se determinó que esta especie presenta mayor número de aerópilos.

T. solanivora se encuentra distribuida por América Central y parte de América de Sur, principalmente en zonas en las cuales las temperaturas son más altas que en las zonas andinas (hábitat de *S. tangolias*), por esta razón es posible que necesite mayor oxígeno y consecuentemente la mayor presencia aerópilos. Se podría inferir de igual manera que el número y tamaño de aerópilos en *S. tangolias* es una adaptación a las condiciones en las cuales habita ya que está en zonas más altas en las que la cuota de oxígeno es menor.

Los gases se difunden directamente al interior del huevo por el corión (Tuft 1950, Outram 1967) es así que Gautam en sus estudios sugiere un mecanismo que relaciona la presencia y el número de aerópilos en huevos de algunas especies plagas de coleópteros y lepidópteros y el control de su viabilidad con determinados fumigantes (Gautam et al. 2015, 2014). Los fumigantes se difundirían al interior del huevo al igual que los gases.

Con los antecedentes presentados en el párrafo anterior y las observaciones desarrollados en el presente estudio podríamos inferir que, sería más fácil controlar huevos de *T. solanivora* debido a que las áreas de aparente ingreso de insecticida a través de los aerópilos son mayores en esta especie, comparado con lo que se encuentra en *S. tangolias*.

El número de aperturas micropilares es una característica de cada especie de insectos (Skudlik et al. 2005). El orden Lepidóptera, por ejemplo, presenta entre 1 a 20 micrópilos por huevo (Hinton 1981). El micrópilo consiste de un orificio pequeño, como un embudo, situado en el polo anterior a través del cual ingresa el esperma para fertilizar al huevo (Deep y Rose 2014, Kučerová et al, 2010, Cruz-Reyez y Comargo-Camargo 2001, Chapman 1982). Células primarias ubicadas como rosetas de pétalos rodean a los poros

micropilares (Suledere 1988) las mismas que definen, identifican o protegen el orificio micropilar. El número de pétalos así como el de las rosetas pueden variar dentro de Lepidóptera (García y Martín 1995). El diseño de la roseta es un carácter útil en la definición, aun cuando existen variaciones intraespecíficas considerables en la forma y el número de las rosetas (Arbogast 1980).

El tamaño del micrópilo tendrá que ver con la entrada de los espermatozoides en cada especie y la presencia de las rosetas se podría explicar cómo protecciones del micrópilo. Se resalta el hecho de que los bordes celulares lipoproteicos son más pronunciados en *S. tangolias* que en *T. solanivora* y por lo tanto se podría decir que la primera no necesita una capa extra de protección.

Según esta investigación se puede concluir que hay diferencias morfológicas marcadas entre los huevos de *T. solanivora* y los de *S. tangolias*, las mismas que pueden ayudarnos a distinguir entre una especie y otra. Es más, el modelo matemático que igualmente ha sido desarrollado nos permite poder identificarlas y reconocerlas con altos grados de confiabilidad.

Agradecimientos

Agradezco a Clifford Keil, Julio Sánchez, Sabrina Méndez, Linda Díaz y Yasiju Anano por el apoyo técnico recibido en esta investigación. Gracias a los laboratorios de Fitopatología de Agrocalidad en Tumbaco y al Laboratorio de Microscopía Electrónica del INSPI en la ciudad de Guayaquil. Se agradece a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador en donde se llevó a cabo la investigación.

Referencias Citadas

- Andrade, R. y P. Bonilla. s/a. El cultivo de la papa en el Ecuador, insectos plaga-enfermedades-nemátodos y su control químico. Departamento Técnico Nacional. Ecuaquímica. Ecuador.
- Arbogast, R.T., G.L. Lecat, y R.V. Byrd, 1980. External morphology of some eggs of stored product moths (Lepidoptera: Pyralidae, Gelechiidae, Tineidae). Int. J. Insect Morphol. Embryol. 9:165-177.
- Barragán, A., A. Pollet, G. Onore, C. Ruiz y I. Aveiga. 2002. *Symmetrischema plaesiosema* (Turner 1919) (Lepidoptera: Gelechiidae) una nueva polilla de la papa en el Ecuador. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador.
- Chapman, R. F. 1982. The Insects: Structure and Function. 3rd Ed. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts EEUU. Pp. 392-393.
- Chavez, L. y N. Añez. 2013. Geometría de las células del exocorión de huevos de *Rhodnius prolixus* Stal, (Heteroptera: Reduviidae). Entomotrópica 18: 1-5. ISSN 1317-5262.
- Cruz-Reyes, A. y B. Camargo-Camargo. 2001. Glosario de términos en parasitología y ciencias afines. Instituto de Biología. UNAM. México. ISSN 968-856-878-3.
- Cummings, M.R. y R.C King. 1996. The cytology of the vitellogenic stages during oogenesis in *Drosophila melanogaster*. I. General staging characteristics. J. Morphol. 128:427-442.
- Deep, D.S. y H.S. Rose. 2014. Study on the external morphology of the eggs of maize borer, *Chilo partellus* (Swinhoe). Journal of Entomology and Zoology Studies 4:2
- Echeverría, B. F. y L. C. Enríquez. 2006. Determinación de parámetros técnicos para la crianza masiva de la polilla de la papa (*Tecia solanivora*, Povolny) en la provincia del

Carchi con proyección a la producción de baculovirus. Tesis de grado como requisito para obtener el título de Ingeniero Agropecuario. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Ibarra. Ecuador.

Flores, R., H. Naranjo., J. Galláraga., M. P. Sánchez, y S. Viteri. 2012. Estudio de la demanda de la semilla de la papa de calidad en Ecuador. Documento de trabajo-Ecuador. No.1. Quito, Ecuador.

Freitas, A. y K.S. Brown. 2004. Phylogeny of the Nymphalidae (Lepidóptera). Systematic Biology 53.

Galliard, H. 1935. Recherches sur les rédivudes hématophages *Rhodnius* et *Triatoma*. IV Organes génitaux femelles. Ann. Parasit. Hum. Comp. 13:497-527.

Gaino, E., M. Piersanti y M. Rebora. 2008. Egg envelope synthesis and chorion modification after oviposition in the dragonfly *Depressa* (Odonata, Libellulidae) Tissue Cell 44:317-324.

Garcia-Barros, E. y J. Martín. 1995. The eggs of European satyrine butterflies (Nymphalidae): external morphology and its use in systematics. Zool. J. Linn. Soc. 115: 73-115.

Gautam, S. G., G. P. Opit., D. Margosan, D. Hoffmann, J.S. Tebbets y S. Walse. 2014. Egg morphology of key stored-product pests of the United States. Ann. Entomol. Soc. Am. 107: 1-10.

Gautam, S. G., G. P. Opit, D. Margosan, D. Hoffmann, J.S. Tebbets y S. Walse. 2015. Comparative egg morphology and chorionic ultrastructure of key stored-product insects pests. Ann. Entomol. Soc. Am. 108: 43-56.

Hernández, J. M. 1991. Estudio de los caracteres del huevo en diversos Cerambycidae ibéricos y su interés taxonómico (Coleóptera). Graellsia 47:49-59.

- Hernández, B., A. Flores y J. Llorente. 2014a. Morfología del corión en la Subfamilia Coliadinae (Lepidoptera: Pieridae): Chorionic morphology in the Coliadinae Subfamily (Lepidoptera: Pieridae). Southwestern Entomologist 39: 4
- Hernández, B., A. Flores y J. Llorente. 2014b. Chorion morphology in the genus *Ascia* and *Ganyra* and its comparison with other proximate genera to Pierinae (Lepidoptera: Pieridae). Southwestern Entomologist 39: 1
- Hinton H.E. 1981. Biology of the insect egg, Tom I-III. Pergamon Press, Oxford.
- Kawaguchi, Y., M. Ichida, T. Kusakabe y K. Kogam. 2007. Surface ultrastructure of the egg chorion of Eri silkworm, *Samia ricini* (Donovan) (Lepidoptera: Saturniidae). J. Entomol. 4: 68-81.
- King, R.C., A.C. Robinson y R.F. Smith. 1956. Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster*. Growth 20:121-157.
- Kučerová, Z., J. Hromádková y V. Stejskal. 2010. External egg morphology of common stored-product pests from the families Anobiidae (Ptininae) and Dermestidae (Coleoptera). 10th International Working Conference on Stored Product Protection.
- Llorente-Bousquets, J, y G. Castro. 2007. Estudios en sistemática de Dismorphiinae (Lepidóptera: Pieridae) I: Morfología de huevos y su importancia taxonómica. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 31(118): 145-164. ISSN 0370-3908.
- Outram, I. 1967. Factors affecting the resistance of insect eggs to sulphuryl fluoride-I: the uptake of sulphuryl-³⁵S fluoride by insect eggs. J. Stored Prod. Res. 3:255-260.
- Pollet, A., A. Barragán y P. Iturralde. 2003. Conozca y Maneje la Polilla de la Papa (*Tecia solanivora*). Serie de Divulgación 3. Centro de Biodiversidad y Ambiente, Escuela de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito.Ecuador.

- Poprawa, I. y M.M. Rost. 2004. Structure and ultrastructure of the egg capsule of *Thermobia domestica* (Packard) (Insecta Zygentoma). Folia Biol 52(3-4):185-190.
- Pumisacho, M., y S. Sherwood. 2002. El Cultivo de la Papa en Ecuador. INIAP-CIP. 229pp. Ecuador.
- Rosciszewska, E.1996a. Diversification of the follicular cells in the panoistic ovary of the stone fly *Perlodes intricata* (Pictet, 1841) (Plecoptera: Perlodidae) during choriogenesis. Zool Poloniae 41:89-102.
- Rosciszewska, E. 1996b. Egg capsule structure of the stonefly, *Protonemura intricata* (RIS, 1902) (Plecoptera: Nemuridae) Acta Biol. Cracov Ser Zool. 38:41-49.
- Sánchez-Otero, J. 2015. Introducción a la estadística no paramétrica y al análisis multivariado. Giro Creativo. Quito, Ecuador.
- Simiczjew, B. 1999. The ovary structure and oogenesis in *Hydrometra stagnorum* (Heteroptera: Hydrometridae). Acta Soc. Zool Bohem. 63:187-197.
- Skudlik, J., I. Poprawa y M.M. Rost. 2005. The egg capsule of *Spodoptera exigua* Hübner, 1808 (Insecta, Lepidoptera, Noctuidae): morphology and ultrastructure. Zoolog. Pol. 50: 25-31.
- Suludere, Z. 1988. Studies on the external morphology of the eggs of *Melitaea* species (Satyridae: Lepidoptera). Commun. Fac. Sci. Univ. Ank. Ser. C 5:73-84.
- Tuft, H. P. 1950. The structure of the insect egg-shell in relation to the respiration of the embryo. Exp. Biol. 26:327-334.
- Van Trees, H.L., K.L. Bell y Z. Tian. 2013. Detection, Estimation and Modulation theory, Part I., 2nd Ed., John Wiley & Sons Inc.

Visciarelli, E., A. Ferrero y S.R. Costamanga. 2004. Aspectos exocoriales de huevos de *Triatoma patagónica* del Ponte, 1929 por microscopía electrónica de barrido. Entomol. Vect. 11(4): 653-668. ISSN 0328-0381.

Tabla 1. Estadísticos descriptivos¹ de las variables estudiadas en *Symmetrischema tangolias* (n=225).

	Media (mm)	Desviación típica (mm)	Error típico (mm)	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo (mm)	Máximo (mm)
				Límite inferior (mm)	Límite superior (mm)		
Eje Mayor	0.47	0.04	0.002	0.47	0.48	0.35	0.57
Eje Menor	0.35	0.03	0.002	0.35	0.36	0.27	0.48
Superficie	0.49	0.07	0.005	0.48	0.5	0.31	0.71
Volumen	0.03	0.01	0.001	0.03	0.03	0.02	0.06
S:V	15.74	1.27	0.08	15.58	15.91	12.62	19.73

1. Datos obtenidos del análisis descriptivo realizados en el Software SPSS versión 18.0

Tabla 2. Estadísticos descriptivos¹ de las variables estudiadas en *Tecia solanivora* (n=275).

	Media (mm)	Desviación típica (mm)	Error típico (mm)	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo (mm)	Máximo (mm)
				Límite inferior (mm)	Límite superior (mm)		
Eje Mayor	0.53	0.05	0.003	0.52	0.53	0.31	0.68
Eje Menor	0.41	0.05	0.003	0.4	0.41	0.3	0.57
Superficie	0.63	0.09	0.005	0.62	0.64	0.3	0.94
Volumen	0.05	0.01	0.001	0.05	0.05	0.01	0.08
S:V	13.88	1.2	0.072	13.73	14.02	11.02	19.67

1. Datos obtenidos del análisis descriptivo realizados en el Software SPSS versión

18.0

Tabla 3. Parámetros comparativos y características de los huevos de las especies *Symmetrischema tangolias* y *Tecia solanivora*.

Característica	<i>Symmetrischema tangolias</i>	<i>Tecia solanivora</i>
Eje Mayor (mm)	0.47 ± 0.04	0.53 ± 0.05
Eje Menor (mm)	0.35 ± 0.03	0.41 ± 0.04
Relación L:A	1.29	1.34
Superficie (mm²)	0.49 ± 0.07	0.63 ± 0.1
Volumen (mm³)	0.03 ± 0.01	0.05 ± 0.01
Relación S:V (mm)	15.74 ± 1.27	13.88 ± 1.2
Diámetro del Aerópilo (µm)	1	1.2
Número de Aerópilos *	10.2	25.4
Número de Aerópilos por mm² **	22.45	34.92
Micrópilo	1.7	0.077
Superficie del corión	Rugosa, presencia de polígonos irregulares.	Ligeramente rugosa principalmente en la región anterior, con presencia de polígonos irregulares.

Los datos corresponden al promedio más menos la desviación estándar.

*El dato corresponde a la mediana.

**Se calculó dividiendo el promedio de aerópilos de cada especie para la superficie del huevo de la respectiva especie.

Tabla 4. Medias y varianzas de los ejes mayor y menor de *Symmetrischema tangolias* y *Tecia solanivora*.

Característica	<i>Symmetrischema tangolias</i>	<i>Tecia solanivora</i>
	X ₁ , Y ₁	X ₂ , Y ₂
Eje mayor (mm)		
X	m _{X1} = 0,47 σ _{X1} = 0,036	m _{X2} = 0,53 σ _{X2} =0,049
Eje menor (mm)		
Y	m _{Y1} = 0,35 σ _{Y1} = 0,034	m _{Y2} = 0,41 σ _{Y2} =0,045

Tabla 5. Porcentaje de clasificación correcta en base al modelo estadístico propuesto.

	Especie			
	<i>Symmetrischema tanglias</i>		<i>Tecia solanivora</i>	
	Recuento	% del N de la columna	Recuento	% del N de la columna
H0	194	86,20	44	16,00
H1	31	13,80	231	84,00

Figuras

[Figura 1.](#) Fotografías con microscopía electrónica de barrido de *Symmetrischema tangolias*. (A) Reticulación presente en el corión. (B) Micrópilo en la cual se observa la roseta principal. (C) Aerópilo presente en el huevo. (D) Aerópilos presentes en la convergencia de los polígonos presentes en el corión.

[Figura 2.](#) Fotografía con microscopía confocal del detalle de la reticulación del corión del huevo de *Symmetrischema tangolias*.

[Figura 3.](#) Fotografías con microscopía electrónica de barrido de *Tecia solanivora*. (A) Reticulación presente en el corión. (B) Micrópilo en la cual se observa la roseta principal (la interior) y secundaria (la exterior). (C) Aerópilo presente en el huevo. (D) Reticulación significativamente más marcada en el polo anterior. (E) Presencia de poros a lo largo de la toda la superficie del huevo.

[Figura 4.](#) Fotografía con microscopía confocal del huevo de *Tecia solanivora* (A) Detalle del micrópilo del huevo de *T. solanivora*. (B) Detalle de la reticulación del corión del huevo de *T. solanivora*. (C) Detalle del crecimiento de la larva de *T. solanivora*.

[Figura 5.](#) Diagrama de caja de los ejes mayor y menor en relación a los día de incubación para las dos especies *Symmetrcihema tangolias* (a) y *Tecia solanivora* (b).

[Figura 6.](#) Histogramas comparativos del eje mayor y menor de *Symmetrischema tangolias* (a) y *Tecia solanivora* (b).

[Figura 7.](#) Funciones densidad de probabilidad conjunta (X,Y) F1 correspondiente a *Symmetrischema tangolias* y F2 correspondiente a *Tecia solanivora*, con las que se modela a cada una de las especies ilustradas en el mismo gráfico. Gráfico realizado en el Software Matlab.

Figura 1

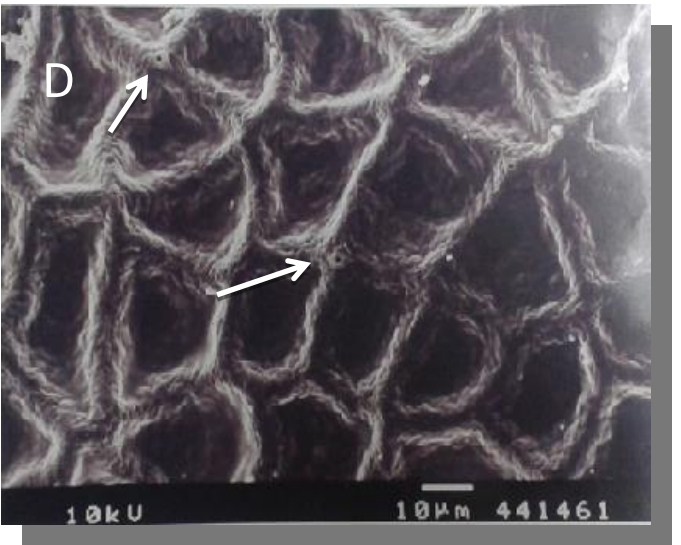
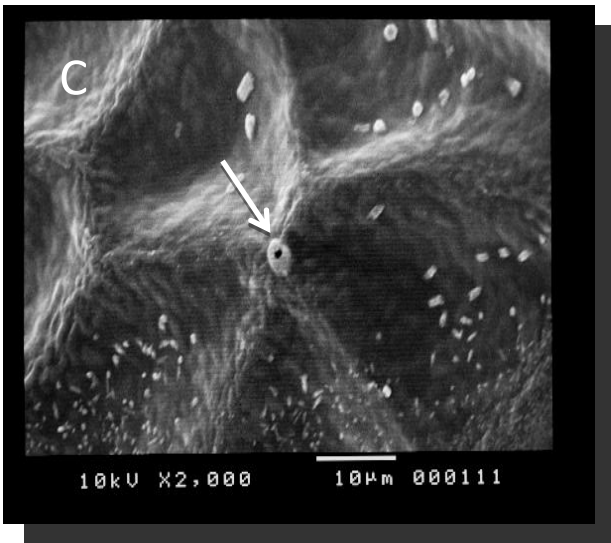
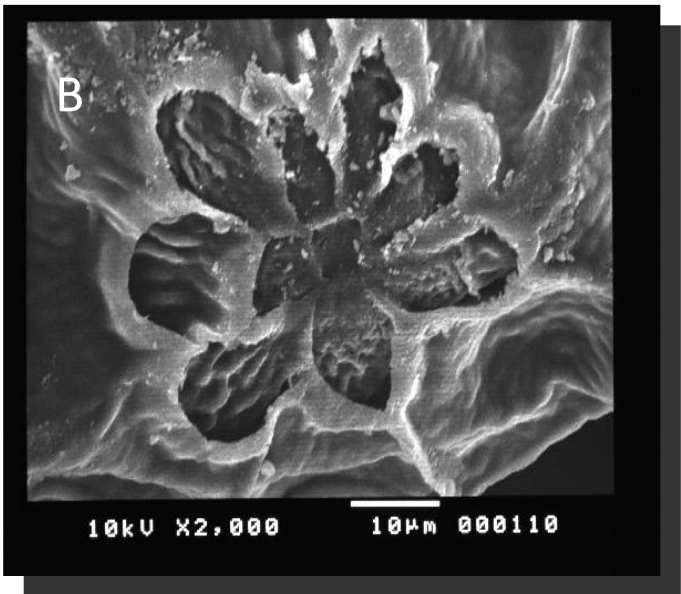
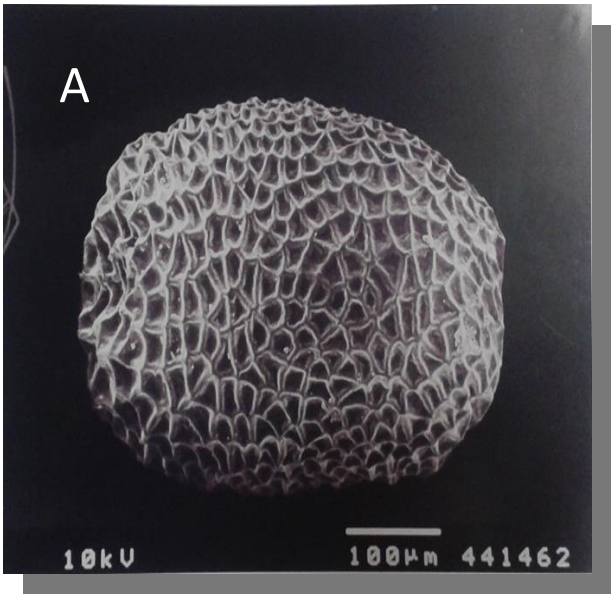


Figura 2

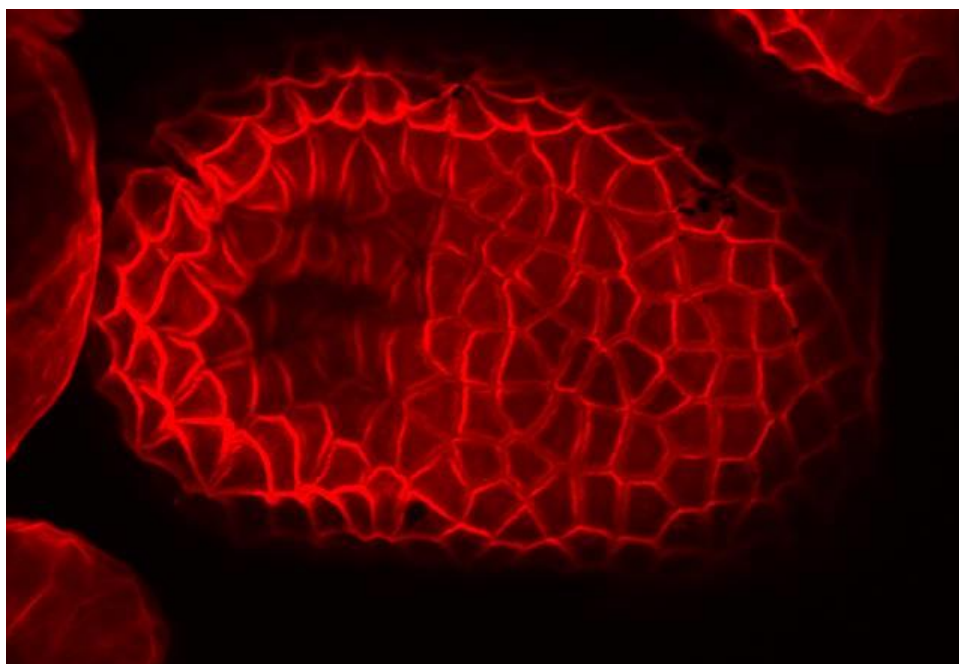


Figura 3

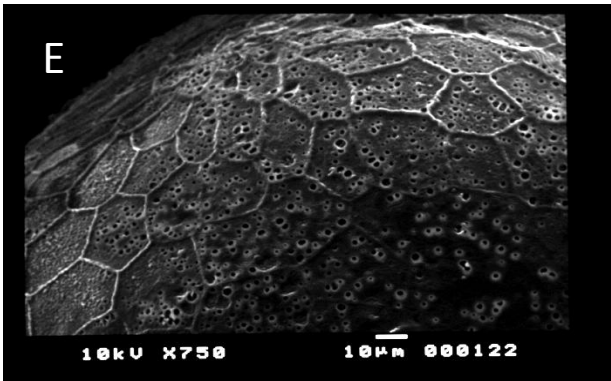
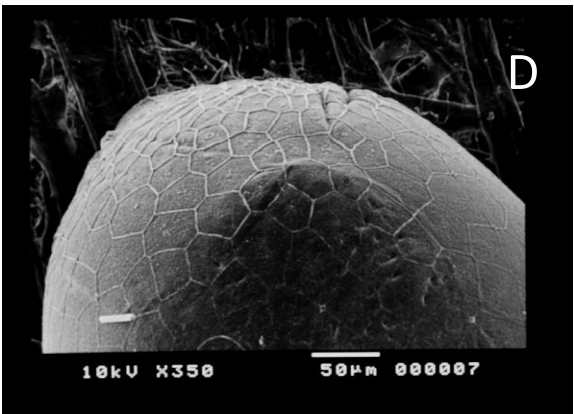
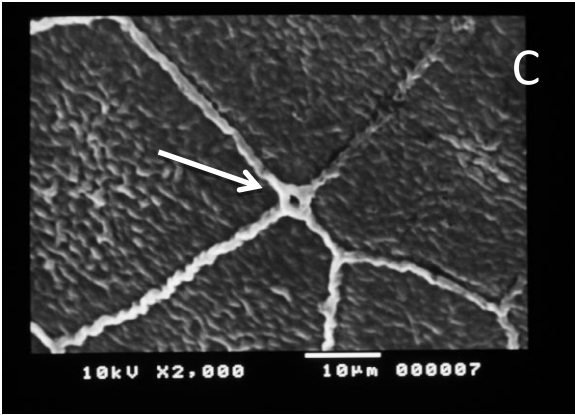
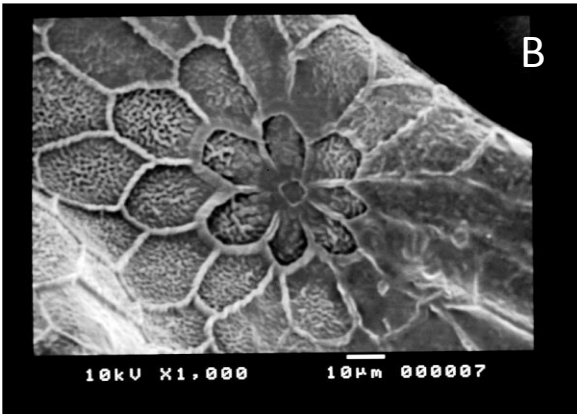
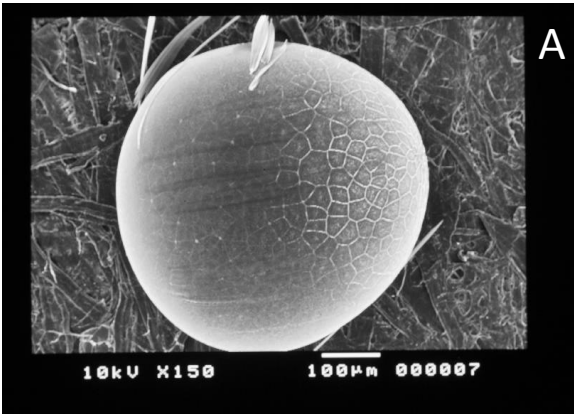


Figura 4

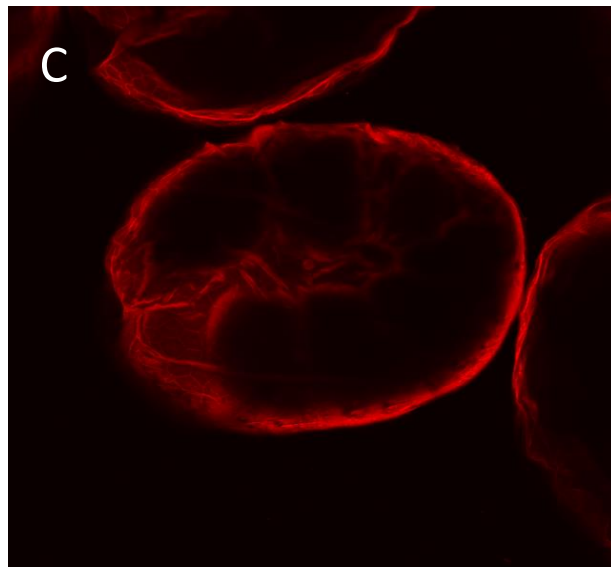
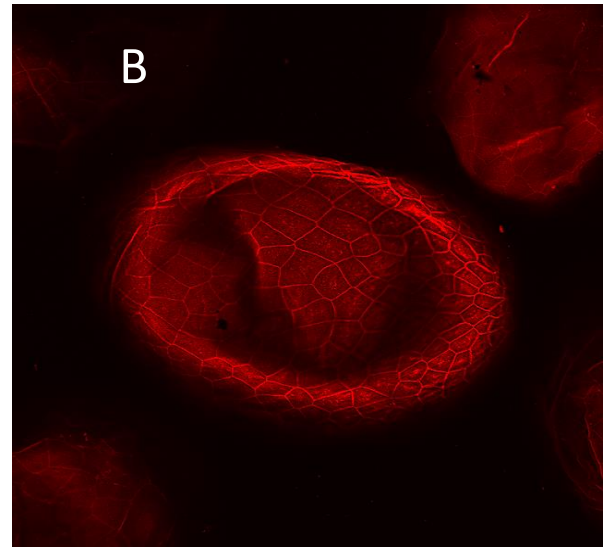
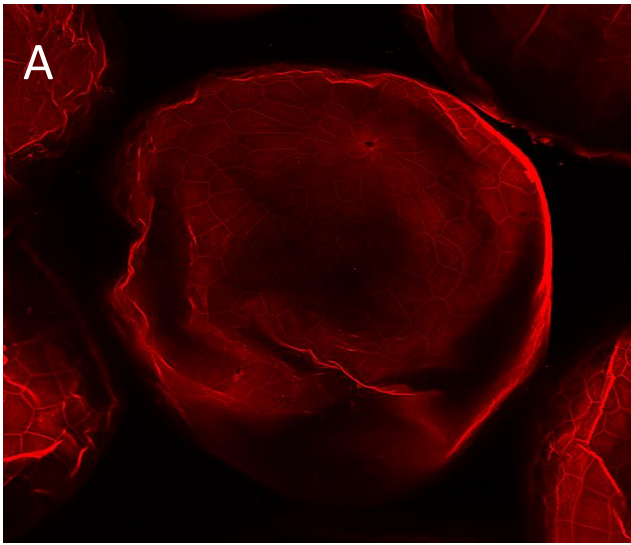
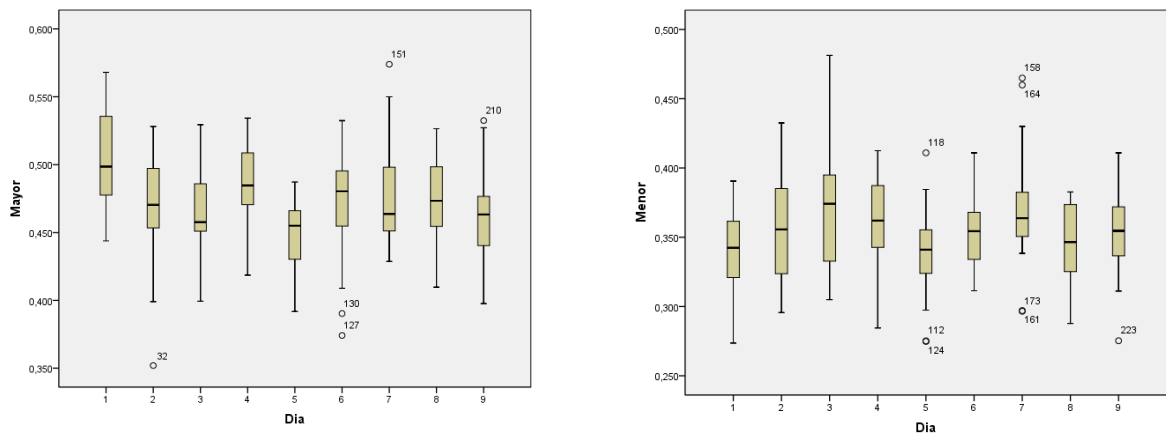


Figura 5

A



B

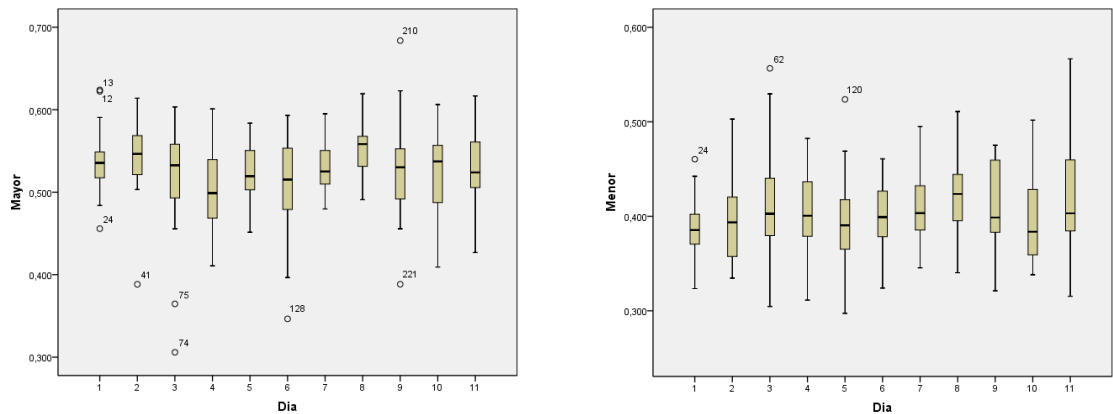


Figura 6

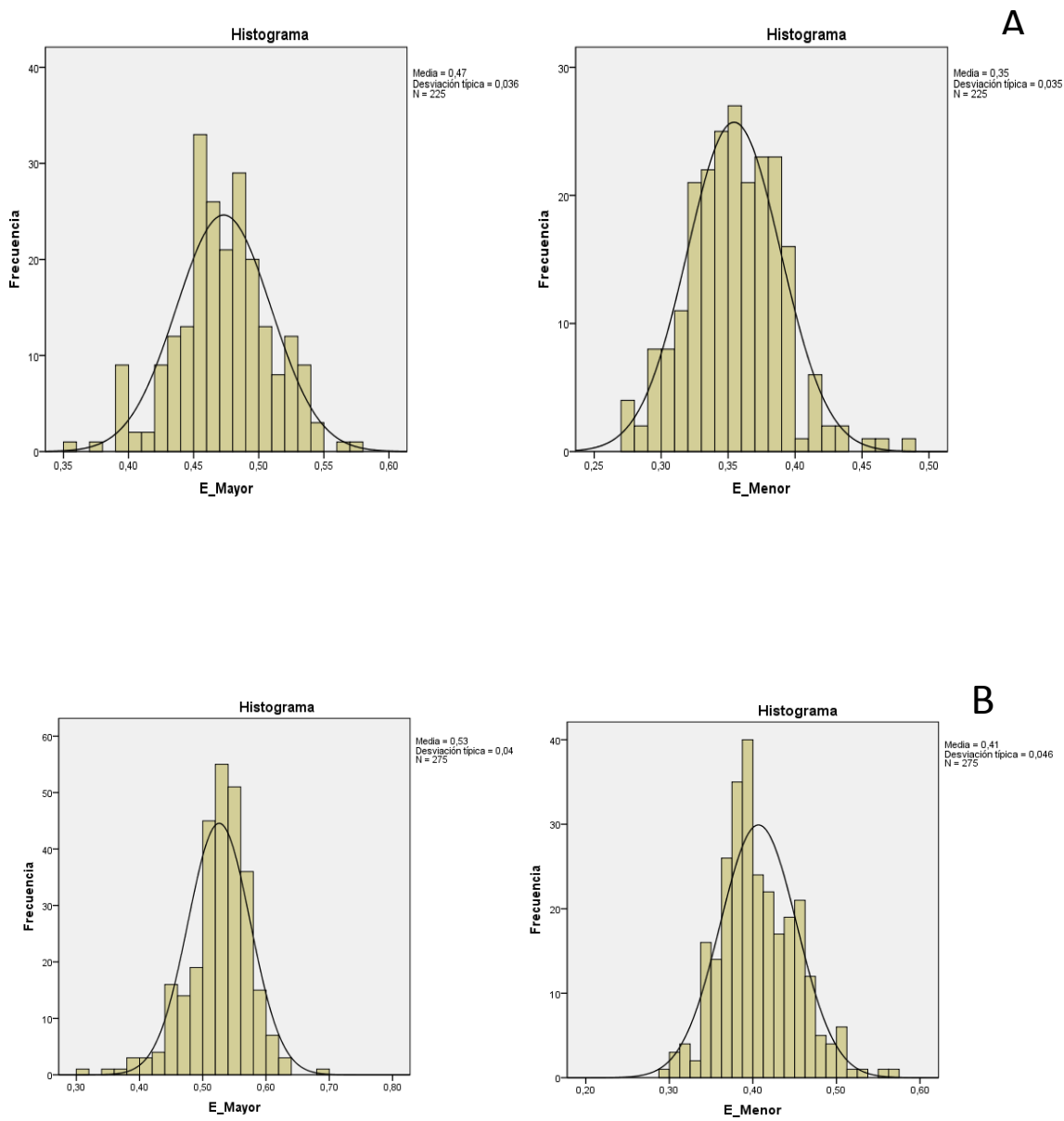
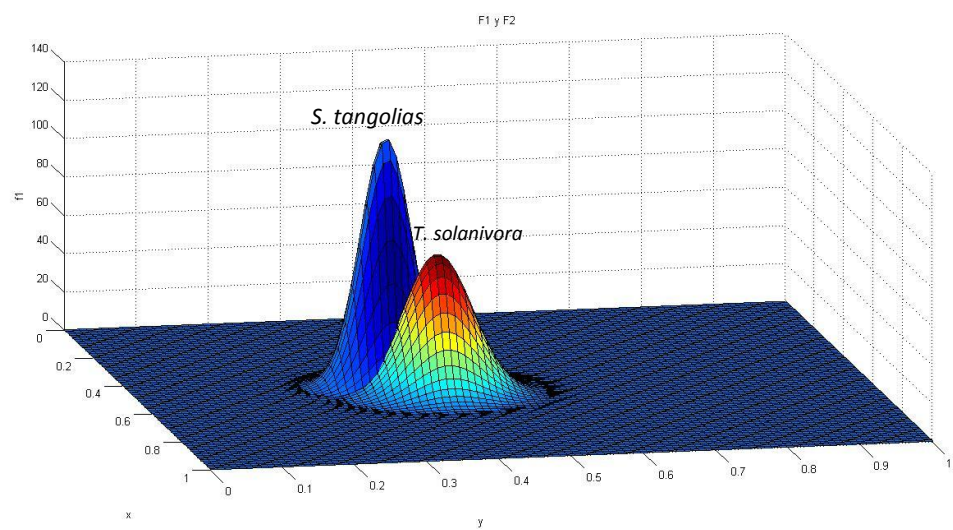


Figura 7



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Carolina Alexandra Martínez Grijalva, C.I 1002845509 autora del trabajo de graduación intitulado: “Caracterización de la microestructura del corión del huevo de *Symmetrischema tangolias* y *Tecia solanivora* (Lepidóptera: Gelechiidae): Propuesta de un modelo estocástico para la identificación entre las dos especies”, previa a la obtención del grado académico de **LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en la facultad de **Ciencias Exactas y Naturales**:

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 04 de mayo del 2015

Srta. Carolina A. Martínez Grijalva

C.I. 1002845509